



①9 BUNDESREPUBLIK  
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES  
PATENTAMT

⑫ **Offenlegungsschrift**  
⑩ **DE 44 18 115 A 1**

⑤1 Int. Cl. 5:  
**A 61 K 31/33**  
A 61 K 9/10  
A 61 K 31/70  
C 07 H 19/01  
C 07 D 498/18  
// C 07 C 43/11

②1 Aktenzeichen: P 44 18 115.9  
②2 Anmeldetag: 24. 5. 94  
④3 Offenlegungstag: 1. 12. 94

DE 44 18 115 A 1

③0 Unionspriorität: ③2 ③3 ③1  
27.05.93 GB 9310974 05.10.93 GB 9320463

⑦1 Anmelder:  
Sandoz-Patent-GmbH, 79539 Lörrach, DE

⑦2 Erfinder:  
Fricker, Gerd, Dr., 79219 Staufen, DE; Haeberlin,  
Barbara, Dr., Riehen, CH; Meinzer, Armin, Dr., 79112  
Freiburg, DE; Vonderscher, Jacky, Dr., Riedisheim,  
FR

⑤4 Galenische Formulierungen

⑤7 Pharmazeutische Zusammensetzung, die Makrolid, z. B. eine Rapamycinverbindung in einem Emulsionsvorkonzentrat oder Mikroemulsionsvorkonzentrat für orale Verabreichung enthält. Der Träger für die Rapamycinverbindung schließt eine hydrophile Phase, eine lipophile Phase und einen oberflächenaktiven Stoff ein. Die Zusammensetzung ist stabil und liefert eine hohe Absorptionswirksamkeit.

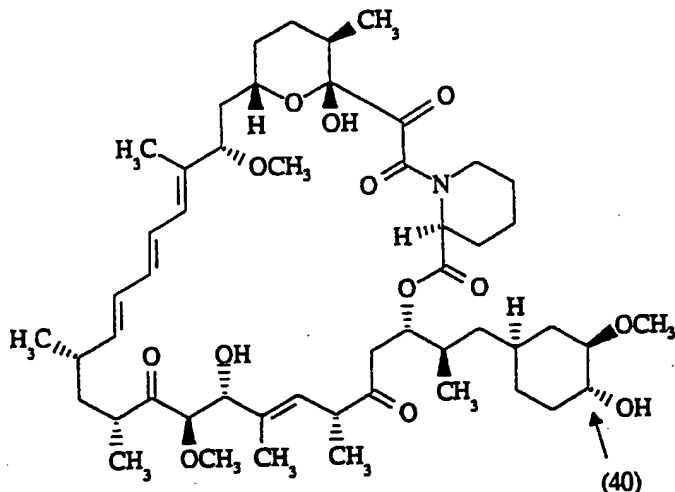
DE 44 18 115 A 1

## Beschreibung

Diese Erfindung bezieht sich auf galenische Formulierungen, die Makrolide enthalten, z. B. Verbindungen der Rapamycinklasse. Diese Erfindung bezieht sich besonders auf galenische Formulierungen, die in der Gestalt von Mikroemulsionen, Mikroemulsionsvorkonzentraten, Emulsion, oder Emulsionsvorkonzentrat sind.

Das Makrolid kann außer Kohlenstoffatomen z. B. 1, 2 oder 3 Ringsauerstoff- oder Stickstoff- oder andere Atome enthalten. Es kann Seitenketten, z. B. in der Gestalt von verschmolzenen Ringen, oder Substituenten, z. B. Oxygruppen haben. Es kann Doppelbindungen enthalten. Es kann z. B. von 15 bis 35 Ringatome aus z. B. Kohlenstoff enthalten.

Rapamycin ist ein Macrolidantibiotikum, das aus *Streptomyces hygroscopicus* hergestellt wird. Man hat gefunden, daß es in einer Vielzahl von Anwendungen pharmazeutisch nützlich ist, besonders als Immunosuppressor zur Benutzung in der Behandlung und Verhinderung von Organtransplantatabweisung und Autoimmunerkrankungen. Rapamycin hat die folgende Struktur:



(Kessler, H. et al., *Helv. Chim. Acta* (1993) 76: 117; US Patent Nr. 3929992). Große Anzahlen von Rapamycinderivaten sind synthetisiert worden, einschließlich zum Beispiel diejenigen, die in US Patenten 5221670 und 5221740 beschrieben werden, bestimmte Acyl- und Aminoacylrapamycine (siehe zum Beispiel US Patent 4316885, und US Patent 4650803, und US Patent 5151413), und Carbonate und Amidester (siehe zum Beispiel EP 509795 und 515140), 27-Desmethylrapamycin (siehe zum Beispiel WO 92/14737), 26-Dihydrorapamycin (siehe zum Beispiel US Patent 5138051), Alkoxyesterderivate (siehe zum Beispiel US Patent 5233036, und bestimmte Pyrazolderivate (US Patent 5164399).

Rapamycin und seine strukturell ähnlichen Analoge und Derivate werden kollektiv "Verbindungen der Rapamycinklasse" in dieser Beschreibung genannt.

Verbindungen der Rapamycinklasse sind sehr starke Immunsuppressoren und haben auch Antitumor- und Antifungalaktivität. Ihre Benutzung als Pharmazeutika, besonders bei oraler Verabreichung ist durch ihre geringe Löslichkeit, geringe und variable Bioverfügbarkeit, und hohe Giftigkeit eingeschränkt gewesen. Man weiß wenig über die Ursachen dieser Eigenschaften und der Absorptionsstelle. Daher kann angenommen werden, daß geringe Bioverfügbarkeit wegen intensivem Metabolismus des Makrolidrings stattfindet und nicht von einer galenischen Formulierung gelöst werden kann. Daher wird eine annehmbare pharmazeutische Zusammensetzung benötigt, die Verbindungen der Rapamycinklasse enthält.

FK506 ist ein Makrolidimmunosuppressor, der aus *Streptomyces tsukubaensis* Nr. 9993 hergestellt wird. Die Struktur von FK506 wird in dem Anhang des Merck Indexes als Punkt A5 angegeben. Es ist auch eine große Anzahl von verwandten Verbindungen bekannt, die die grundlegende Struktur und immunologischen Eigenschaften von FK506 beibehalten. Diese Verbindungen werden in einer großen Anzahl von Veröffentlichungen beschrieben, zum Beispiel EP 184162, EP 315973, EP 323042, EP 423714, EP 427680, EP 465426, EP 474126, WO 91/13889, WO 91/19495, EP 484936, EP 532088, EP 532089, WO 93/5059 und dergleichen. Man weiß wenig über die biopharmazeutischen Eigenschaften solcher Komponenten. Diese Komponenten werden in dieser Beschreibung kollektiv "FKF506-Verbindungen" genannt.

Man hat nun überraschenderweise gefunden, daß stabile Zusammensetzungen, die Makrolide enthalten, die hohe Absorptionswirksamkeit bieten, erhalten werden können, indem die Makrolide mit bestimmten Trägern formuliert werden.

Daher liefert diese Erfindung eine pharmazeutische Zusammensetzung, die ein Makrolid und einen Träger umfaßt, der eine hydrophile Phase, eine lipophile Phase und einen oberflächenaktiven Stoff umfaßt.

Die Erfindung liefert in einer anderen Beziehung eine pharmazeutische Zusammensetzung, die ein oral verabreichbares aktives Mittel umfaßt, das anders als ein Cyclosporin ist, und ein Mikroemulsionsvorkonzentrat-träger dafür, das folgendes umfaßt:

- i) ein Reaktionsprodukt aus Rizinusöl und Ethylenoxid,
- ii) ein Umesterungsprodukt von einem Pflanzenöl und Glycerol, das hauptsächlich Mono-, Di- und Triglyceride von Linolsäure oder Ölsäure oder ein polyoxyalkyliertes Pflanzenöl umfaßt,
- iii) 1,2-Propylenglycol und
- iv) Ethanol.

Die pharmazeutische Zusammensetzung ist stabil und ergibt sich in einer erstaunlich hohen und gleichbleibenden Absorptionswirksamkeit, wenn sie oral verabreicht wird. Daher kann das Makrolid in geringeren Dosen verabreicht werden, was Giftigkeitsprobleme vermindert. Zum Beispiel ergaben Tierversuche, in denen die pharmazeutischen Zusammensetzungen oral verabreicht wurden, hohe Bioverfügbarkeiten. Daher haben die pharmazeutischen Zusammensetzungen sehr überraschende Eigenschaften, die hohe Vorteile bieten.

Die Zusammensetzung ist vorzugsweise in der Gestalt eines "Mikroemulsionsvorkonzentrats" oder "Emulsionsvorkonzentrats", insbesondere der Gestalt, das O/W(Öl-in-Wasser)-Mikroemulsionen oder -Emulsionen liefert. Die Zusammensetzung kann aber in Gestalt einer Mikroemulsion oder einer Emulsion sein, die zusätzlich eine wäßrige Phase enthält, vorzugsweise Wasser.

Ein "Mikroemulsionsvorkonzentrat" ist in dieser Beschreibung als Formulierung definiert, die eine Mikroemulsion spontan in einem wäßrigen Mittel bildet, zum Beispiel in Wasser oder in den Magensäften nach oraler Verabreichung.

Ein "Mikroemulsion" ist eine nicht opake oder im wesentlichen nicht opake colloidale Dispersion, die spontan oder im wesentlichen spontan gebildet wird, wenn ihre Komponenten miteinander in Kontakt gebracht werden. Eine Mikroemulsion ist thermodynamisch stabil und enthält zerstreute Teilchen einer Größe, die geringer als ungefähr 2000 Å ist. Mikroemulsionen umfassen im allgemeinen Tröpfchen oder Teilchen mit einem Durchmesser geringer als ungefähr 1500 Å; typischerweise von 30 bis 1000 Å. Weitere Merkmale können in der britischen Patentanmeldung 2 222 770 A gefunden werden, dessen Beschreibung hierin durch Bezug einverleibt ist.

Ein "Emulsionsvorkonzentrat" wird in dieser Beschreibung als eine Formulierung beschrieben, die spontan eine Emulsion in einem wäßrigen Medium, zum Beispiel in Wasser oder in den Magensäften nach oraler Verabreichung bildet. Die gebildete Emulsion ist opak, thermodynamisch stabil und enthält zerstreute Tröpfchen einer Größe, die höher als ungefähr 100 nm sind, gewöhnlicherweise größer als ungefähr 200 nm. Es werden häufig bimodale Größenbereichsverteilungen erhalten. Die Emulsionsvorkonzentrate sind vorzugsweise der Art, die O/W(Öl-in-Wasser)-Emulsionen liefern.

Eine "pharmazeutische Zusammensetzung" heißt eine Zusammensetzung, in der die individuellen Komponenten oder Bestandteile selbst pharmazeutisch annehmbar sind, und, wenn eine besondere Verabreichungsform vorgesehen ist, für diese Art der Verabreichung geeignet oder annehmbar sind.

Die lipophile Phase kann 10 bis 85 Gewichts% des Trägers umfassen; vorzugsweise 15 bis 70 Gewichts%, mehr bevorzugt 20 bis 60 Gewichts% und noch mehr bevorzugt ungefähr 25 Gewichts%.

Der oberflächenaktive Stoff kann 5 bis 80 Gewichts% des Trägers umfassen; vorzugsweise 10 bis 70 Gewichts%, mehr bevorzugt 20 bis 60 Gewichts% und noch mehr bevorzugt ungefähr 40 Gewichts%.

Die hydrophile Phase kann 10 bis 50 Gewichts% des Trägers umfassen; vorzugsweise 15 bis 40 Gewichts%, mehr bevorzugt 20 bis 35 Gewichts% und noch mehr bevorzugt ungefähr 30 Gewichts%.

Das Makrolid ist ungefähr in einer Menge von 1 bis 15 Gewichts% der Zusammensetzung vorhanden, mehr bevorzugt ungefähr 2 bis 10%.

Das Makrolid kann Rapamycin oder ein O-substituiertes Derivat sein, in dem das Hydroxy in Stellung 40 der oben dargestellten Formel durch  $-OR_1$  ersetzt wird, worin  $R_1$  Hydroxyalkyl, Hydroalkoxyalkyl, Acylaminoalkyl und Aminoalkyl ist; zum Beispiel 40-O-(2-Hydroxy)ethylrapamycin, 40-O-(3-Hydroxy)propylrapamycin, 40-O-[2-(2-Hydroxy)ethoxy]ethylrapamycin und 40-O-(2-Acetaminoethyl)rapamycin. Diese O-substituierten Derivate können hergestellt werden, indem Rapamycin (oder Dihydro oder Deoxorapamycin) mit einem organischen Radikal reagiert wird, das unter geeigneten Reaktionszuständen an eine fortgehende Gruppe (zum Beispiel RX, worin R das organische Radikal ist, das als O-Substituent erwünscht ist, wie eine Alkyl-, Allyl-, oder Benzylmoietät, und X eine fortgehende Gruppe wie  $CCl_3C(NH)O$  oder  $CF_3SO_3$  ist) befestigt ist. Die Zustände können saure oder neutrale Zustände sein, zum Beispiel in der Gegenwart einer Säure wie Trifluoromethansulfonsäure, Camphersulfonsäure, p-Toluensulfonsäure oder ihre entsprechenden Pyridin- oder substituierten Pyridinsalze, wenn X  $CCl_3C(NH)O$  ist, oder in der Gegenwart einer Base wie Pyridin, einem substituierten Pyridin, Diisopropylethylamin oder Pentamethylpiperidin, wenn X  $CF_3SO_3$  ist.

Eine bevorzugte Verbindung ist 40-O-(2-Hydroxy)ethylrapamycin (im folgenden Verbindung A), wie in PCT/EP/93/02604 beschrieben ist.

Die oben genannten sind Beispiele von Verbindungen der FK506-Klasse. Sie schließen zum Beispiel FK506, Ascomycin und andere natürlich auftretende Verbindungen ein. Sie schließen auch synthetische Analoge ein.

Eine bevorzugte Verbindung der FK506-Klasse wird in EP 427680 beschrieben, z. B. Beispiel 66a.

Andere bevorzugte Verbindungen werden in EP 465426 beschrieben.

Die hydrophile Phase kann von Transcutol (das die Formel  $C_2H_5-[O-(CH_2)_2-OH]$  hat) ausgewählt werden, Glycofurol (auch als Tetrahydrofurfurylalkoholpolyethylenglycolether bekannt) und 1,2-Propylenglycol oder Mischungen davon, und ist vorzugsweise 1,2-Propylenglycol. Die hydrophile Phase kann weitere hydrophile Mitkomponenten einschließen, zum Beispiel geringere Alkohole wie Ethanol. Diese Mitkomponenten werden im allgemeinen als Teilersatz anderer Komponenten der hydrophilen Phase vorhanden sein. Man hat gefunden, daß sich Benutzung von Ethanol, obwohl sie in den Zusammensetzungen nicht wesentlich ist, von besonderem Vorteil erwiesen hat, wenn die Zusammensetzungen in einer weichen eingekapselten Gelatinegestalt hergestellt werden sollen. Dieses liegt daran, daß Lagerungsmerkmale verbessert werden, insbesondere, daß das Risiko der Rapamycinfällung nach dem Einkapselungsverfahren reduziert wird. Daher kann die Lagerdauerstabilität ver-

längert werden, indem Ethanol oder eine andere solche Mitkomponente als zusätzlicher Bestandteil der hydrophilen Phase benutzt wird. Das Ethanol kann 0 bis 60 Gewichts-% der hydrophilen Phase umfassen, vorzugsweise 20 bis 55 Gewichts-% und mehr bevorzugt ungefähr 40 bis 50 Gewichts-%. Kleine Mengen von flüssigen Polyethylenglycolen können auch in der hydrophilen Phase eingeschlossen sein.

5 Bevorzugte lipophile Phasenkomponenten sind Triglyceride von mittellangen Fettsäurenketten, gemischte Mono-, Di-, Triglyceride und umgeesterte ethoxilierte Pflanzenöle. Geeignete Medium Fettsäurekettenglyceride sind diejenigen, die im Handel unter den Handelsnamen Miglyol, Captex, Myritol, Capmul, Captex, Neobee und Mazol bekannt und erhältlich sind; wobei Miglyol 812 am meisten bevorzugt wird. Diese Triglyceride werden in Fiedler, H. P. "Lexikon der Hilfsstoffe für Pharmazie, Kosmetik und angrenzende Gebiete, Edition  
10 Cantor, D-7960 Aulendorf, dritte verbesserte und erweiterte Ausgabe (1989) beschrieben, dessen Inhalt hier durch Bezug eingeschlossen ist.

Die gemischten Mono-, Di-, Triglyceride umfassen vorzugsweise Mischungen von C<sub>12</sub>-20-Fettsäure-Mono-, Di- und Triglyceriden, insbesondere gemischte C<sub>16</sub>-18-Fettsäuren-Mono-, Di- und Triglyceride. Die Fettsäurenkomponente der gemischten Mono-, Di- und Triglyceride können sowohl gesättigte als auch ungesättigten Fettsäurenreste umfassen. Vorzugsweise umfassen sie aber hauptsächlich ungesättigte Fettsäurenreste; insbesondere ungesättigte C<sub>18</sub>-Fettsäurenreste. Geeigneterweise umfassen die gemischten Mono-, Di-, Triglyceride  
15 wenigstens 60 Gewichts%, vorzugsweise wenigstens 75 Gewichts%, mehr bevorzugt wenigstens 85 Gewichts% eines ungesättigten C<sub>18</sub>-Fettsäuren (zum Beispiel Linolen-, Linol- und Ölsäure)-mono-, -di- und -triglycerids. Die gemischten Mono-, Di-, Triglyceride umfassen weniger als 20 Gewichts%, zum Beispiel 15 Gewichts% oder 10 Gewichts% oder weniger gesättigte Fettsäuren (zum Beispiel Palmitin- und Sterinsäure)-mono-, -di- und -triglyceride.

Die gemischten Mono-, Di-, Triglyceride umfassen vorzugsweise hauptsächlich Mono- und Diglyceride; zum Beispiel umfassen Mono- und Diglyceride wenigstens 50%, mehr bevorzugt wenigstens 70%, beruhend auf dem Gesamtgewicht der lipophilen Phase. Die Mono- und Diglyceride umfassen mehr bevorzugt wenigstens 75  
25 Gewichts% (zum Beispiel ungefähr 80 Gewichts% oder 85 Gewichts%) der lipophilen Phase.

Vorzugsweise umfassen die Monoglyceride von ungefähr 25 bis ungefähr 50% der gemischten Mono-, Di-, Triglyceride, beruhend auf dem Gesamtgewicht der lipophilen Phase. Es sind mehr bevorzugt von ungefähr 30 bis ungefähr 40% (zum Beispiel 35 bis 40%) Monoglyceride vorhanden.

Die Diglyceride umfassen vorzugsweise von ungefähr 30 bis ungefähr 60% der gemischten Mono-, Di-, Triglyceride, beruhend auf dem Gesamtgewicht der lipophilen Phase. Es sind mehr bevorzugt von ungefähr 40 bis ungefähr 55% (zum Beispiel 48 bis 50%) Diglyceride vorhanden.

Die Triglyceride umfassen geeigneterweise wenigstens 5%, aber weniger als ungefähr 25%, der gemischten Mono-, Di-, Triglyceride, beruhend auf dem Gesamtgewicht der lipophilen Phase. Es sind mehr bevorzugt von ungefähr 7,5 bis ungefähr 15% (zum Beispiel 9 bis 12%) Triglyceride vorhanden.

35 Die gemischten Mono-, Di-, Triglyceride können durch Zumischung von individuellen Mono-, Di-, Triglyceriden in geeigneten relativen Anteilen vorbereitet werden. Sie umfassen aber praktischerweise Umesterungsprodukte von Pflanzenölen, zum Beispiel Mandelöl, gemahlenem Nußöl, Olivenöl, Persica Öl, Palmöl oder vorzugsweise Kornöl, Sonnenblumenöl oder Safloröl und besonders Kornöl mit Glycerol.

Solche Umesterungsprodukte werden im allgemeinen durch Erhitzen des ausgewählten Pflanzenöls mit  
40 Glycerol bei einer hohen Temperatur in der Gegenwart eines geeigneten Katalysators in einer inerten Atmosphäre bei andauerndem Rühren (zum Beispiel in einem rostfreien Stahlreaktor) erhalten, um Umesterung oder Glycerolyse zu bewirken. Die Umesterungsprodukte umfassen im allgemeinen zusätzlich zu ihren Mono-, Di- und Triglyceridkomponenten auch geringe Mengen von freiem Glycerol. Die Menge des vorhandenen freien Glycerols ist vorzugsweise weniger als 10%, mehr bevorzugt weniger als 5%, am meisten bevorzugt ungefähr 1  
45 oder 2 Gewichts%, beruhend auf dem Gesamtgewicht des freien Glycerols plus Mono-, Di- und Triglyceride.

Zunächst wird vorzugsweise ein wenig des Glycerols entfernt, um einen "im wesentlichen glycerolfreien Satz" zu ergeben, wenn weiche Gelatine kapseln hergestellt werden sollen.

Umesterungsprodukte von Kornöl und Glycerol liefern besonders geeignete gemischte Mono-, Di- und Triglyceride. Ein Beispiel eines geeignet gemischten Glyceridproduktes ist das Umesterungsprodukt, das im  
50 Handel unter dem Handelsnamen MAISINE erhältlich ist. Dieses Produkt umfaßt hauptsächlich Linol- und Ölsäurenmono-, -di-, -triglyceride zusammen mit geringen Mengen von Palmitin- und Sterinsäurenmono-, -di- und -triglyceriden (Kornöl selbst umfaßt Bestandteile von ungefähr 56 Gewichts% Linolsäure, 30% Ölsäure, ungefähr 10% Palmitinsäure und ungefähr 3% Sterinsäure). Die physikalischen Merkmale von MAISINE [erhältlich von der Firma Etablissement Gattefossé, 36, Chemin de Genas, P.O. Box 603, 69804 Saint-Priest,  
55 Gedex (Frankreich)] sind wie folgt: bis zu 10% (typischerweise 3,9 bis 4,9% oder, in "im wesentlichen glycerolfreie" Sätze, ungefähr 0,2%) freies Glycerol; ungefähr 35% (typischerweise 30 bis 40%, oder, in "im wesentlichen glycerolfreie" Sätze, ungefähr 32 bis 36%, zum Beispiel ungefähr 36%) Monoglyceride; ungefähr 50% (oder, in "im wesentlichen glycerolfreie" Sätze, ungefähr 46 bis 48%) Diglyceride; ungefähr 10% (oder, in "im wesentlichen glycerolfreie" Sätzen, ungefähr 12 bis 15%) Triglyceride; und ungefähr 1% freie Ölsäure.

60 Weitere physikalische Merkmale für MAISINE sind wie folgt: ein maximaler Säurenwert von ungefähr 2, eine Jodzahl von ungefähr 85 bis 105, eine Verseifungszahl von ungefähr 150 bis 175 (Fiedler "Lexikon der Hilfsstoffe", dritte verbesserte und erweiterte Ausgabe (1989) Vol. 2, S. 768). Der Fettsäuregehalt für MAISINE ist typischerweise wie folgt: ungefähr 11% Palmitinsäure, ungefähr 2,5% Sterinsäure; ungefähr 29% Ölsäure; ungefähr 56% Linolsäure; und 1,5% andere Säuren.

65 Es wird besonders vorgezogen, das die gemischten Mono-, Di-, Triglyceride klar sind und länger als 20 Tage während Lagerung bei Temperaturen von 20°C bis 25°C klar bleiben. Eine Probe der gemischten Mono-, Di- und Triglyceride, die in einem Kühlschrank bei ungefähr 2 und 8°C für 24 Stunden aufbewahrt worden ist, und dann bei Zimmertemperatur für 1 Stunde aufbewahrt worden ist, sollte auch klar sein.

Die Mono-, Di-, Triglyceride haben vorzugsweise einen geringen Gehalt von gesättigtem Fett. Gemischte Mono-, Di-, Triglyceride, die diesen Anforderungen genügen, können von im Handel erhältlichen Produkten durch beim Stand der Technik bekannten Trennverfahren (zum Beispiel Gefrierverfahren, die mit Trennverfahren verbunden sind, wie Zentrifugierung) erhalten werden, um die gesättigten Fettsäurenkomponenten zu entfernen, und den ungesättigten Fettsäurenkomponentengehalt zu verbessern. Typischerweise wird der gesamte gesättigte Fettsäurenkomponentengehalt geringer als 15 Gewichts% (zum Beispiel < 10 Gewichts%, oder < 5 Gewichts%) sein, beruhend auf dem Gesamtgewicht der lipophilen Phase. Eine Verringerung des Gehaltes der gesättigten Fettsäurenkomponente in dem Monoglyceridbruchteil kann beobachtet werden, nachdem es dem Trennverfahren ausgesetzt wurde. Ein geeignetes Verfahren wird in WO 93/09211 beschrieben.

Die gemischten Mono-, Di-, Triglyceride enthalten daher vorzugsweise geringere Mengen von gesättigten Fettsäuren (z. B. Palmitin- und Sterinsäuren) und relativ höhere Mengen von ungesättigten Fettsäuren (z. B. Öl- und Linolsäuren) als Ausgangsmaterial.

Ein geeignetes Beispiel eines gemischten Mono-, Di-, Triglyceridprodukts, das geringe Mengen von gesättigten Fettsäuren enthält, enthält folgendes: 32 bis 36 Gewichts% Monoglyceride, 45 bis 55 Gewichts% Diglyceride und 12 bis 20 Gewichts% Triglyceride, beruhend auf dem Gesamtgewicht der lipophilen Phase. Weitere Kennzeichen schließen das folgende ein:

|  |  |
|--|--|
| Fettsäuregehalt<br>(wie als der Methylester durch<br>Chromatographie bestimmt) | Methylinoelat 53 bis 63%<br>Methyloleat 24 bis 34%<br>Methylinolenat 0 bis 3%<br>Methylarachidat 0 bis 3%<br>Methylpamitat 6 bis 12%<br>Methylstearat 1 bis 3% |
| relative Dichte  | 0,94 bis 0,96  |
| Hydroxylzahl   | 140 bis 210  |
| Jodzahl  | 110 bis 20   |
| Peroxidzahl  | <4,0   |
| Freies Glycerol  | <1,0   |
| Verseifungszahl  | ungefähr 150 bis 185   |
| Säurenwert   | max. ungefähr 2  |

Gemischte Mono-, Di-, Triglyceride, die diesen Kennzeichen nachkommen, werden in dieser Beschreibung als "raffinierte glycerolumgeesterte Kornöle" bezeichnet. Die "raffinierten glycerolumgeesterten Kornöle" haben den Vorteil, daß sie eine lange Zeit stabil bleiben.

Die lipophile Phase kann andererseits geeignete umgeesterte ethoxylierte Pflanzenöle umfassen, wie die, die erhalten werden, indem verschiedene natürliche Pflanzenöle (zum Beispiel Maisöl, Kernöl, Mandelöl, gemahlene Nußöl, Olivenöl, Sojaöl, Sonnenblumenöl, Safloröl, und Palmöl, oder Mischungen davon), mit Polyethylenglycolen, die ein mittleres Molekulargewicht von 200 bis 800 haben, in Gegenwart eines geeigneten Katalysators reagiert werden. Diese Verfahren sind bekannt, und ein Beispiel wird in U.S. Patent 3288824 beschrieben. Umgeestertes ethoxyliertes Kornöl wird besonders bevorzugt.

Umgeesterte ethoxylierte Pflanzenöle sind bekannt und im Handel unter dem Handelsnamen LABRAFIL erhältlich (H. Fiedler, loc cit, Vol. 2, Seite 707). Beispiele sind LABRAFIL M 2125 CS (das von Kornöl erhalten wird und eine Säurenzahl hat, die kleiner als ungefähr 2 ist, eine Verseifungszahl von 155 bis 175, einen HBL-Wert von 3 bis 4, und eine Jodzahl von 90 bis 110), und LABRAFIL M 1944 CS (das von Kernöl erhalten wird und eine Säurenzahl von ungefähr 2 hat, eine Verseifungszahl von 145 bis 175, und eine Jodzahl von 60 bis 90). LABRAFIL M 2130 CS (das ein Umesterungsprodukt eines C<sub>12-18</sub> Glycerid- und Polyethylenglycols ist und das einen Schmelzpunkt von ungefähr 35 bis 40°C hat, eine Säurenzahl, die kleiner als ungefähr 2 ist, eine Verseifungszahl von 185 bis 200, und eine Jodzahl, die kleiner als ungefähr 3 ist) kann auch benutzt werden. Das bevorzugte umgeesterte ethoxylierte Pflanzenöl ist LABRAFIL M 2125 CS, das zum Beispiel von Gattefossé, Saint-Priest Cedex, Frankreich erhalten werden kann.

Beispiele von geeigneten oberflächenaktiven Stoffen sind wie folgt:

- i) Reaktionsprodukte eines natürlichen oder hydrierten Rizinusöls und Ethylenoxids. Das natürliche oder hydrierte Rizinusöl kann mit Ethylenoxid in einem Molarverhältnis von ungefähr 1 : 35 bis ungefähr 1 : 60 reagiert werden, mit wahrfreier Entfernung der Polyethylenglycolkomponente von den Produkten. Es sind verschiedene solche oberflächenaktiven Stoffe im Handel erhältlich. Die Polyethylenglycol-hydrierten Rizi-

nusöle, die unter dem Handelsnamen CREMOPHOR erhältlich sind, sind besonders geeignet. Besonders geeignet sind CREMOPHOR RH 40, das eine Verseifungszahl von ungefähr 50 bis 60 hat, eine Säurezahl, die kleiner als ungefähr 1 ist, einen Wassergehalt (Fischer), der kleiner als ungefähr 2% ist, eine  $n_D^{60}$  von ungefähr 1,453 bis 1,457 und einen HLB-Wert von ungefähr 14 bis 16; und CREMOPHOR RH 60, das eine Verseifungszahl von ungefähr 40 bis 50 hat, eine Säurezahl, die kleiner als ungefähr 1 ist, eine Jodzahl, die kleiner als ungefähr 1 ist, einen Wassergehalt (Fischer) von ungefähr 4,5 bis 5,5%, eine  $n_D^{25}$  von ungefähr 1,453 bis 1,457 und einen HLB-Wert von ungefähr 15 bis 17. Ein besonders bevorzugtes Produkt dieser Klasse ist CREMOPHOR RH40. Polyethylenglycolrizinusöle, die unter dem Handelsnamen CREMOPHOR EL erhältlich sind, sind auch geeignet, wobei CREMOPHOR EL ein Molekulargewicht (durch Dampfsmometrie) von ungefähr 1630 hat, eine Verseifungszahl von ungefähr 65 bis 70, eine Säurezahl von ungefähr 2, eine Jodzahl von ungefähr 28 bis 32 und eine  $n_D^{25}$  von ungefähr 1,471. Ähnliche oder identische Produkte, die auch benutzt werden können, sind unter den Handelsnamen NIKKOL (z. B. NIKKOL HCO-40 und NIKKOL HCO-60), MAPEG (z. B. MAPEG CO-40h), INCROCAS (z. B. INCROCAS 40), und TAGAT (z. B. TAGAT RH 40) erhältlich. Diese oberflächenaktiven Stoffe werden weiter in Fiedler loc. cit. beschrieben.

ii) Polyoxyethylen-sorbitanfettsäureester, zum Beispiel Mono- und Trilauryl-, -palmityl-, -stearyl und -oleylester der Art, die im Handel unter dem Handelsnamen TWEEN (Fiedler, loc. cit. S. 1300—1304) bekannt und erhältlich sind, einschließlich der Produkte TWEEN

20[Polyoxyethylen(20)sorbitanmonolaurat],

21[Polyoxyethylen(4)sorbitanmonolaurat],

40[Polyoxyethylen(20)sorbitanmonopalmitat],

60[Polyoxyethylen(20)sorbitanmonostearat],

65[Polyoxyethylen(20)sorbitantristearat],

80[Polyoxyethylen(20)sorbitanmonooleat],

81[Polyoxyethylen(5)sorbitanmonooleat],

85[Polyoxyethylen(20)sorbitantrioleat]

Besonders bevorzugte Produkte dieser Klasse sind TWEEN 40 und TWEEN 80.

iii) Polyoxyethylenfettsäureester, zum Beispiel Polyoxyethylenstearinsäureester der Art, die im Handel unter dem Handelsnamen MYRJ (Fiedler, loc. cit., 2, S. 834—835) bekannt und erhältlich sind. Ein besonders bevorzugtes Produkt dieser Klasse ist MYJR 52 mit einer  $D^{25}$  von ungefähr 1,1, einem Schmelzpunkt von ungefähr 40 bis 44°C, einen HLB-Wert von ungefähr 16,9, einen Säurenwert von ungefähr 0 bis 1 und einer Verseifungszahl von ungefähr 25 bis 35.

iv) Polyoxyethylen-Polyoxypropylenblockpolymere und -blockcopolymere, zum Beispiel der Art, die unter den Handelsnamen PLURONIC, EMKALYX und POLOXAMER (Fiedler, loc. cit., 2, S. 959) bekannt und erhältlich sind. Ein besonders bevorzugtes Produkt dieser Klasse ist PLURONIC F68, mit einem Schmelzpunkt von ungefähr 52°C und einem Molekulargewicht von ungefähr 6800 bis 8975. Ein weiteres bevorzugtes Produkt dieser Klasse ist POLOXAMER 188.

v) Dioctylsulfosuccinat oder Di-[2-ethylhexyl]succinat (Fiedler, loc. cit., 1, S. 107—108).

vi) Phospholipide, insbesondere Lecithine (Fiedler, loc. cit., 2, S. 943—944).

Geeignete Lecithine schließen insbesondere Sojalecithine ein.

vii) Propylenglycolmono- und -difettsäureester wie Propylenglycoldicaprylat (auch im Handel unter dem Handelsnamen MIGLYOL 840 bekannt und erhältlich), Propylenglycoldilaurat, Propylenglycolhydroxystearat, Propylenglycolisostearat, Propylenglycollaurat, Propylenglycolricinoleat, Propylenglycolstearat und so weiter (Fiedler, loc. cit., 2, S. 808—809).

Man wird auch einsehen, daß die Komponenten des Trägers nicht reagierende Ausgangsmaterialien, z. B. Polyethylenglycol, enthalten können.

Der ausgewählte oberflächenaktive Stoff hat vorzugsweise einen HLB von wenigstens 10.

Der relative Anteil der hydrophilen Phasenkomponente(n), der lipophilen Phase und des oberflächenaktiven Stoffes liegen innerhalb des "Mikroemulsions"gebiets auf einem normalen dreiwegigen Diagramm. Die so erhaltenen Zusammensetzungen sind Mikroemulsionsvorkonzentrate mit hoher Stabilität, die nach der Zugabe von Wasser fähig sind, Mikroemulsionen zu liefern, die eine durchschnittliche Teilchengröße von <1500 Å haben und die über Dauern von 24 Stunden stabil sind.

Die Mikroemulsionsvorkonzentratzusammensetzungen zeigen gute Stabilitätsmerkmale, wie durch normale Stabilitätsversuche gezeigt ist, zum Beispiel mit einer Lagerdauerstabilität von bis zu drei Jahren und sogar länger.

Andererseits können die Komponenten ausgewählt werden, um ein Emulsionsvorkonzentrat zu liefern. Die Emulsionsvorkonzentratzusammensetzungen zeigen auch gute Stabilitätsmerkmale, wie durch normale Stabilitätsversuche gezeigt, zum Beispiel eine Lagerdauerstabilität von bis zu drei Jahren und sogar länger.

Die pharmazeutische Zusammensetzung kann auch weitere Zugaben oder Bestandteile einschließen, zum Beispiel Antioxidante (wie Ascorbylpalmitat, Butylhydroxyanisol (BHA), Butylhydroxytoluen (BHT) und Tocopherole), und oder Konservierungsmittel. Diese Zugaben oder Bestandteile können ungefähr 0,05 bis 1 Gewichts% des Gesamtgewichts der Zusammensetzung umfassen. Die pharmazeutische Zusammensetzung kann auch Süß- oder Aromastoffe in einer Menge von bis zu 2,5 oder 5 Gewichts% einschließen, beruhend auf dem Gesamtgewicht der Zusammensetzung. Das Antioxidant ist vorzugsweise  $\alpha$ -Tocopherol (Vitamin E).

Die pharmazeutische Zusammensetzung kann auch ein oder mehrere Immunsuppressoren wie zum Beispiel ein Cyclosporin einschließen, oder, wenn ein Rapamycin vorhanden ist, eine wie oben beschriebene FK506-Verbindung. Cyclosporine umfassen eine Klasse von zyklischen, poly-N-methylierten Undecapeptiden, die im allgemeinen immunsuppressive antientzündliche, antivirale und/oder antiparasitische Aktivität besitzen, jede zu

einem höheren oder kleineren Grad. Das erste der Cyclosporine, das identifiziert werden soll, war der fungale Metabolit Cyclosporin A, oder Ciclosporin, und seine Struktur wird in dem Merck Index, 11te Ausgabe, Merck & CO., Inc.; Rahway, New Jersey, USA (1989) unter der Auflistung 2759 gegeben. Spätere Cyclosporine, die identifiziert werden, sind Cyclosporine B, C, D und G, die auch im Merck Index unter Auflistung 2759 gelistet sind. Eine große Anzahl von synthetischen Analogen sind auch bekannt, und darstellende Beispiele werden in EP 296122, EP 484281, und GB 2222770 beschrieben. Diese Verbindungen werden in dieser Beschreibung kollektiv "Cyclosporine" genannt.

Die pharmazeutische Zusammensetzung zeigt besonders vorteilhafte Eigenschaften, wenn sie oral verabreicht wird; zum Beispiel betreffs Beständigkeit und einem hohen Stand von Bioverfügbarkeit, der in normalen Bioverfügbarkeitsversuchen erhalten wurde, z. B. 2 bis 4 mal höher als Emulsionen. Diese Versuche werden an Tieren oder gesunden Freiwilligen durchgeführt, unter Benutzung von HPLC oder einer spezifischen oder nichtspezifischen monoklonalen Ausrüstung, um den Stand des Makrolids im Blut zu bestimmen. Zum Beispiel wird in dem in Beispiel 3 beschriebenen Test 10 mg Rapamycin p.o. an Ratten verabreicht und die überraschend hohen  $C_{max}$ -Werte zwischen 2670 und 3400 ng/ml werden von ELISA unter Benutzung eines spezifischen monoklonalen Antikörpers aufgefunden. Es wird auch gefunden, daß eine Emulsionsvorkonzentrat- und eine Mikroemulsionsvorkonzentratzusammensetzung viel bessere pharmakokinetische Eigenschaften als ein normales Lösungsmittelsystem haben.

Pharmakokinetische Parameter, zum Beispiel Absorptions- und Blutspiegel werden auch überraschend leichter vorhersagbar, und Probleme der Verabreichung mit unberechenbarer Absorption kann beseitigt oder verringert werden. Zusätzlich ist die pharmazeutische Zusammensetzung mit tensiden Materialien wirkungsvoll, zum Beispiel Gallensalzen, die in dem Magen-Darm-Trakt vorhanden sind. Das heißt, die pharmazeutische Zusammensetzung ist vollständig in wäßrigen Systemen, die solche natürlichen Tenside umfassen, auflösbar, und kann daher Mikroemulsionssysteme in situ liefern, die stabil sind und nicht Fällung des aktiven Bestandteils oder andere Störung der feinen Teilchenstruktur zeigt. Die Funktion der pharmazeutischen Zusammensetzung nach oraler Verabreichung bleibt im wesentlichen von der relativen Gegenwart oder Abwesenheit von Gallensalzen bei irgendeiner bestimmten Zeit oder für irgendeine bestimmte Person unabhängig und/oder unbeeinflusst.

Die pharmazeutische Zusammensetzung ist vorzugsweise in Einheitsdosierungsgestalt verbunden, zum Beispiel durch ihre Füllung in oral verabreichbare Kapselschalen. Die Kapselschalen können weiche oder harte Gelatinekapselschalen sein. Wo die pharmazeutische Zusammensetzung eine Einheitsdosierungsgestalt hat, wird jede Einheitsdosierung geeigneterweise zwischen 10 und 100 mg des Makrolids enthalten, mehr bevorzugt zwischen 10 und 50 mg; zum Beispiel 15, 20, 25 oder 50 mg des Makrolids. Solche Einheitsdosierungsgestalten sind für die Verabreichung von 1 bis 5 mal täglich geeignet, je nach dem bestimmten Therapiezweck, der Therapiephase und dergleichen.

Wenn es erwünscht ist, kann die pharmazeutische Zusammensetzung aber in GetränkeLösungsgestalt sein, und Wasser oder irgendein anderes wäßriges System einschließen, um Emulsions- oder Mikroemulsionssysteme zu liefern, die zum Trinken geeignet sind.

Benutzung der pharmazeutischen Zusammensetzung kann in normalen klinischen Tests in zum Beispiel bekannten Anzeigen von Makroliddosierungen beobachtet werden, die äquivalente Blutspiegel von Makroliden geben; zum Beispiel Benutzung von Dosierungen in dem Bereich von 2,5 mg bis 1000 mg von Makrolid pro Tag für einen Erwachsenen mit einem Gewicht von 75 Kilogramm, und in normalen Tiermodellen. Die von den Zusammensetzungen gelieferte erhöhte Bioverfügbarkeit des aktiven Bestandteils kann in normalen Tierversuchen und in klinischen Versuchen beobachtet werden. Wenn ein Cyclosporin oder eine FK506-Verbindung in der pharmazeutischen Zusammensetzung eingeschlossen ist, kann diese Nützlichkeit auch bei normalen klinischen Tests und Tiermodellen beobachtet werden. Die Makroliddosierungen, die in klinischen Tests benutzt werden sollen, sind wie oben angegeben, während diejenigen für Cyclosporin in dem Bereich von 25 mg bis 1000 mg pro Tag sein können, und diejenigen für eine FK506-Verbindung 2,5 mg bis 1000 mg pro Tag für einen Erwachsenen mit einem Gewicht von 75 kg sein können.

Die optimale Makroliddosierung, die einem bestimmten Patienten verabreicht werden soll, muß von dem behandelnden Arzt sorgfältig als individuelle Reaktion zum Metabolismus des Rapamycins bedacht werden, da sich der Metabolismus der Rapamycinverbindung ändern kann. Es kann ratsam sein, die Blutserumspiegel der Rapamycinverbindung durch Radioimmunoassay, Assay von monoklonalen Antikörpern oder andere geeigneten konventionelle Mittel zu überwachen. Makroliddosierungen werden im allgemeinen von 2,5 mg bis 1000 mg pro Tag für einen Erwachsenen mit einem Gewicht von 75 kg sein, vorzugsweise 25 mg bis 500 mg, wobei die optimale Dosierung 50 bis 100 mg pro Tag ist. Befriedigende Ergebnisse werden durch Verabreichung von ungefähr 75 mg pro Tag erreicht, zum Beispiel in der Form von zwei Kapseln, eine, die 50 mg enthält, und eine, die 25 mg enthält; oder 3 Kapseln, die je 25 mg enthalten. Wenn ein Cyclosporin oder FK506-Verbindung in der pharmazeutischen Zusammensetzung eingeschlossen ist, kann die Cyclosporindosierung 25 bis 1000 mg pro Tag (vorzugsweise 50 mg bis 500 mg) sein, und die FK506-Verbindungsdosierung kann 2,5 mg bis 1000 mg pro Tag sein (vorzugsweise 10 mg bis 250 mg).

Die pharmazeutischen Verbindungen sind besonders nützlich für die folgenden Zustände:

- a) Behandlung und Verhinderung von Organtransplantatabweisung, zum Beispiel für die Behandlung der Empfänger von Herz-, Lungen-, kombinierten Herz-Lungen-, Leber-, Nieren-, Pankreas-, Haut- oder Corneatransplantate. Die pharmazeutischen Zusammensetzungen sind auch für die Verhinderung von Transplantat-gegen-Empfänger-Erkrankung angezeigt, was manchmal nach Knochenmarkstransplantationen stattfindet.
- b) Behandlung und Verhinderung von Autoimmunerkrankungen und von entzündlichen Zuständen, besonders entzündliche Zuständen mit einer Aetiologie, die eine Autoimmunkomponente wie Arthritis einschließt.

Ben (zum Beispiel rheumatoide Arthritis, Arthritis chronica progrediente und Arthritis deformans) und rheumatische Erkrankungen. Spezifische Autoimmunerkrankungen, für die die pharmazeutischen Zusammensetzungen benutzt werden können, schließen autoimmune hämatologische Erkrankungen ein (einschließlich z. B. hämatologische Anämie, aplastische Anämie, Anämie roter Blutzellen und idiopathische Thrombocytopenia), systemische lupus Erythematosus, Polychondritis, Sklerodoma, Wegener Granulomatosis, Dermatomyositis, chronische aktive Hepatitis, Myasthenia gravis, Psoriasis, Steven-Johnson Syndrom, idiopathische Sprue, autoimmune entzündliche Darmerkrankung (einschließlich z. B. ulcerative Colitis und Crohn's Erkrankung), endokrine Ophthalmopathy, Greaves Erkrankung, Sarcoidosis, multiple Sklerose, primäre biliäre Zirrhose, jugendliche Diabetes (Diabetes mellitus Typ I), Uveitis (vordere und hintere), Keratoconjunctivitis sicca und vemale Keratoconjunctivitis, interstitiale Lungenfibrose, psoriatische Arthritis, Glomerulonephritis (mit und ohne nephrotischem Syndrom, z. B. einschließlich idiopathischem nephrotischem Syndrom oder Nephropathie minimaler Änderung) und jugendliche Dermatomyositis.

c) Behandlung und Verhinderung von Asthma.

d) Behandlung von Multi-Drug Resistance (MDR = Widerstand gegen eine Vielzahl von chemischen Cytostatika. Die Rapamycinverbindungen unterdrücken P-Glucoproteine (Pgp), die Membrantransportmoleküle sind, die MDR zugeordnet sind. MDR ist besonders problematisch in Krebspatienten und AIDS-Patienten, die nicht auf konventionelle Chemotherapie reagieren, da die Medikation von Pgp aus den Zellen gepumpt wird. Daher sind die pharmazeutischen Verbindungen nützlich, um die Wirksamkeit von anderen chemotherapeutischen Mitteln bei der Behandlung und Kontrolle von Multidrug widerstehenden Zuständen zu verbessern, wie Multidrug widerstehendem Krebs oder AIDS.

Die Rapamycinverbindungen zeigen auch Antitumor- und Antifungalaktivität, und daher können die pharmazeutischen Zusammensetzungen als Antitumor- und Antifungalmittel benutzt werden.

In einem weiteren Gesichtspunkt liefert die Erfindung auch ein Verfahren zur Herstellung einer wie oben definierten pharmazeutischen Zusammensetzung, wobei das Verfahren umfaßt, (1) eine hydrophile Phase; (2) eine lipophile Phase; und (3) einen oberflächenaktiven Stoff in enge Zumischung zu bringen, und die Verbindung der Makrolidklasse zuzugeben. Wenn erwünscht, kann die Zusammensetzung in einer Einheitsdosierungsgestalt verbunden werden, zum Beispiel Füllen der Zusammensetzung in Gelatine kapseln.

Es können wahlweise weitere Komponenten oder Zugaben, insbesondere eine Mitkomponente der hydrophilen Phase, zum Beispiel Ethanol, mit Komponenten (1), (2) und (3) vermischt werden, oder mit oder nach Zugabe von Makrolid.

Die Zusammensetzung kann mit genug Wasser oder einer ausreichenden Menge eines wäßrigen Lösungsmittels kombiniert werden, so daß eine Mikroemulsion oder Emulsion erhalten wird.

Die Inhalte aller Bezugsnummern, auf die sich oben bezogen wird, besonders die beispielhaften Verbindungen, sind hier durch Bezug eingeschlossen, und jede der beispielhaften Verbindungen kann als Makrolid in den unten aufgeführten Beispielen benutzt werden.

Die folgenden Beispiele stellen Zusammensetzungen in Einheitsdosierungsgestalt dar, die zur Benutzung geeignet sind, zum Beispiel bei der Verhinderung von Transplantatabweisung oder bei der Behandlung von Autoimmunerkrankung, bei Verabreichung von 1 bis 5 Einheitsdosierungen/Tag. Die Beispiele werden mit besonderem Bezug auf Rapamycin beschrieben, es können aber gleichwertige Zusammensetzungen erhalten werden, die irgend ein anderes Makrolid benutzen.

#### BEISPIEL 1: Raffiniertes, mit Glycerol umgeestertes Kornöl wird wie folgt zubereitet

Mit Glycerol umgeestertes Kornöl, das im wesentlichen glycerolfrei ist, wird langsam auf eine Temperatur von +20°C abgekühlt, und bei dieser Temperatur für eine Nacht aufbewahrt. Das Kornöl wird bei einer Beschleunigung von 12000 G und einer Strömungsrate von 103 kg/h in einer kontinuierlichen Strömungszentrifuge zentrifugiert, um eine flüssige Phase (62 kg/h) und eine ein Sediment enthaltende Phase (41 kg/h) zu ergeben. Die flüssige Phase wird langsam auf +8°C abgekühlt und bei dieser Temperatur für eine Nacht aufbewahrt. Die flüssige Phase wird dann bei einer Beschleunigung von 12000 G und einer Strömungsrate von 112 kg/h zentrifugiert, um eine flüssige Phase (76,2 kg/h) und eine ein Sediment enthaltende Phase (35,8 kg/h) zu ergeben. Die flüssige Phase ist "raffiniertes, Glycerol-umgeestertes Kornöl". Andererseits kann ein verbessertes Produkt erhalten werden, indem die Zentrifugierung in drei Schritten bewirkt wird, z. B. bei +20°C, +10°C und +5°C.

Das Verfahren ist durch eine geringe Prozentsatzverringerung der Monoglyceridkomponente in dem raffinierten mit Glycerol umgeesterten Kornöl, verglichen mit dem Ausgangsmaterial (z. B. 35,6%, verglichen mit 38,3%), gekennzeichnet.

#### BEISPIEL 2

Das wie in Beispiel 1 beschriebene erhaltene raffinierte mit Glycerol umgeesterte Kornöl wird bei der Zubereitung der folgenden oralen Einheitsdosierungsgestalt benutzt:



| <u>KOMPONENTE</u>       | <u>MENGE</u><br>(mg/Kapsel) |
|-------------------------|-----------------------------|
| Rapamycin               | 20,0                        |
| 1) Ethanol              | 75,0                        |
| 2) 1,2-propylene glycol | 81,0                        |
| 3) refined oil          | 121,5                       |
| 4) Cremophor RH40       | 202,5                       |
| Total                   | 500,0                       |

Das Rapamycin wird in (1) unter Rühren bei Zimmertemperatur suspendiert, und (2), (3) und (4) wird während des Rührens der erhaltenen Lösung zugegeben. Die erhaltene Mischung wird in harte Gelatine kapseln der Größe 0 gefüllt und unter Benutzung des Quasi-Seal-Verfahrens abgedichtet.

### BEISPIEL 3: Pharmokinetik

Es werden zwei wie in Beispiel 2 zubereitete Formulierungen benutzt:

| <u>Formulierung</u> | <u>Komponente</u> | <u>Menge</u> |
|---------------------|-------------------|--------------|
| <b>A</b>            | Tween 80          | 41,5%        |
|                     | Maisine           | 24,9%        |
|                     | Propylene         | 16,6%        |
|                     | Ethanol           | 15,0%        |
|                     | Rapamycin         | 2,0%         |
| <b>B</b>            | Cremophor RH40    | 41,5%        |
|                     | Maisine           | 24,9%        |
|                     | Propylene glycol  | 16,6%        |
|                     | Ethanol           | 15,0%        |
|                     | Rapamycin         | 2,0%         |

Formulierung A ist ein Emulsionsvorkonzentrat und Formulierung B ist ein Mikroemulsionsvorkonzentrat. 6 männliche Wistarratten mit einem mittleren Körpergewicht von 300g werden pro Gestalt benutzt. Einen Tag vor der Behandlung wird den Ratten das Futter entzogen, aber es wird den Ratten freier Zugang zu Wasser gestattet. Die Ratten werden dann durch intraperitoneale Einspritzung von  $2 \times 1$  ml 20% Urethan betäubt, und es wird ein permanenter Katheter in die rechte Vena jugularis eingeschoben, um Blutabnahme zu gestatten. 500 ml/Tier der Formulierung wird durch gastrische Einführung 20 Stunden nach der Operation verabreicht. Es wird eine Gesamtdosierung von 10 mg der Droge pro Tier verabreicht. Es werden Blutproben einer Größe von 0,7 ml von dem jugularen Katheter von jedem Tier 15 Minuten vor der Drogenverabreichung und dann 0,17, 0,5, 1, 1,5, 2, 3, 5 und 8 Stunden nach der Drogenverabreichung abgenommen. Die Proben werden in heparinisierten Röhren gehalten und durch ELISA unter Benutzung von Mikrotitrierplatten, die mit spezifischen Antikörpern aus Rapamycin beschichtet sind, analysiert. Die Tiere werden sofort nach der Abnahme der letzten Blutprobe getötet. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle gegeben:

| Für<br>m | AUC (0-8 Std)<br>[ng.h/ml] | CV<br>[%] | C <sub>max</sub><br>[ng/ml] | CV<br>[%] | t <sub>max</sub><br>[Std] | CV<br>[%] |
|----------|----------------------------|-----------|-----------------------------|-----------|---------------------------|-----------|
| A        | 11951                      | 44        | 2671                        | 42        | 3,8                       | 29*       |
| B        | 13826                      | 13        | 3405                        | 30        | 4,0                       | 35+       |

\*) n = 5

+) n = 2 wegen Schwierigkeiten bei der Blutabnahme

Die Ergebnisse zeigen an, daß Rapamycin gut absorbiert wird.

## BEISPIEL 4: Vergleich

Formulierungen A und B werden mit einer Formulierung verglichen, die 38,6% Kornöl, 41,6% Labrafil M21/25C, 17,8% Ethanol und 2% Rapamycin (Formulierung C) umfaßt. Es wird dasselbe Verfahren wie in Beispiel 3 benutzt, außer daß die Tiere je eine Gesamtdosierung von 0,5 mg der Formulierung erhält. Die Ergebnisse werden in der folgenden Tabelle gegeben:

| Für<br>m | AUC(0-8 Std)<br>[ng.h/ml] | CV<br>[%] | C <sub>max</sub><br>[ng/ml] | CV<br>[%] | t <sub>max</sub><br>[Std] | CV<br>[%] |
|----------|---------------------------|-----------|-----------------------------|-----------|---------------------------|-----------|
| A        | 105,8                     | 28        | 31,22                       | 35        | 1,6                       | 51*       |
| B        | 96,6                      | 32        | 36,13                       | 60        | 0,4                       | 30        |
| C        | 36,2                      | 31        | 7,83                        | 27        | 3,0                       | 78        |

\*) n = 4.

Die Ergebnisse zeigen an, daß Formulierungen A und B viel bessere pharmakokinetische Eigenschaften als Formulierung C liefern.

## BEISPIEL 5

Eine aktive Verbindung der FK506-Klasse, oder der Rapamycin-Klasse z. B. Verbindung A, wird zu einem Mikroemulsionsvorkonzentrat mit der folgenden Zusammensetzung in Gewichts% hergestellt: 2% aktive Verbindung, 44% Cremophor RH40, 26,4% Kornölmono-, -di-, -triglyceride, 17,6% 1,2-Propylenglycol und 10% Ethanol.

## Patentansprüche

1. Pharmazeutische Zusammensetzung, das ein Makrolid und einen Träger umfaßt, der eine hydrophile Phase, eine lipophile Phase und einen oberflächenaktiven Stoff umfaßt.
2. Zusammensetzung nach Anspruch 1 in der Gestalt eines Emulsions- oder Mikroemulsionsvorkonzentrats.
3. Zusammensetzung nach Anspruch 1 oder 2, in der die lipophile Phase 10 bis 85 Gewichts% des Trägers umfaßt.
4. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, in der der oberflächenaktive Stoff 5 bis 80 Gewichts% des Trägers umfaßt.
5. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, in der die hydrophile Phase 10 bis 50 Gewichts% des Trägers umfaßt.
6. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 5, in der die Verbindung der Rapamycinklasse in einer Menge von 2 bis 15 Gewichts% der Zusammensetzung vorhanden ist.
7. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 6, in der das Makrolid eine Verbindung der Rapamycinklasse ist.
8. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 6, in der das Makrolid eine FK506-Verbindung ist.
9. Mikroemulsionsvorkonzentratsträger für ein oral verabreichbares Mittel, das anders als Cyclosporin ist, das folgendes umfaßt:
  - i) ein Reaktionsprodukt eines Rizinusöls und Ethylenoxids,
  - ii) ein Umesterungsprodukt von einem Pflanzenöl und Glycerol, das hauptsächlich Mono-, Di- und Triglyceride von Linol- oder Ölsäure oder ein polyoxyalkyliertes Pflanzenöl umfaßt,
  - iii) 1,2-Propylenglycol und
  - iv) Ethanol.